
**Qualité du sol — Effets des polluants
vis-à-vis des vers de terre —**

Partie 3:

Lignes directrices relatives à la détermination
des effets sur site —

iTeh STANDARD PREVIEW

Soil quality — Effects of pollutants on earthworms —

Part 3: Guidance on determination of effects in field situations

ISO 11268-3:1999

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7e288f6d-5d51-43a8-9703-8d8140948f7d/iso-11268-3-1999>



Sommaire

1	Domaine d'application	1
2	Références normatives	1
3	Unités	1
4	Principe	1
5	Échantillonnage des populations de vers de terre.....	2
5.1	Généralités	2
5.2	Méthode d'extraction au formaldéhyde.....	2
5.3	Méthode d'extraction à la moutarde	2
5.4	Méthode d'extraction électrique.....	2
6	Préparation de l'essai	3
6.1	Site d'essai	3
6.2	Contrôle de l'efficacité de la méthode d'extraction.....	5
7	Mode opératoire	5
7.1	Application de la substance d'essai	5
7.2	Dates d'échantillonnage.....	6
7.3	Substance de référence	6
8	Évaluation de l'essai.....	6
8.1	Identification des espèces de vers de terre	6
8.2	Pesage	7
9	Calcul et expression des résultats.....	7
10	Rapport d'essai	7
	Bibliographie.....	8

ITeH STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 11268-3:1999](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7e288f6d-5d51-43a8-9703-8d8140948f7d/iso-11268-3-1999)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7e288f6d-5d51-43a8-9703-8d8140948f7d/iso-11268-3-1999>

Avant-propos

L'ISO (Organisation internationale de normalisation) est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation (comités membres de l'ISO). L'élaboration des Normes internationales est en général confiée aux comités techniques de l'ISO. Chaque comité membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du comité technique créé à cet effet. Les organisations internationales, gouvernementales et non gouvernementales, en liaison avec l'ISO participent également aux travaux. L'ISO collabore étroitement avec la Commission électrotechnique internationale (CEI) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les Normes internationales sont rédigées conformément aux règles données dans les Directives ISO/CEI, Partie 3.

Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour vote. Leur publication comme Normes internationales requiert l'approbation de 75 % au moins des comités membres votants.

La Norme internationale ISO 11268-3 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 190, *Qualité du sol*, sous-comité SC 4, *Méthodes biologiques*.

L'ISO 11268 comprend les parties suivantes, présentées sous le titre général *Qualité du sol — Effets des polluants vis-à-vis des vers de terre*:

- *Partie 1: Détermination de la toxicité aiguë en utilisant des substrats de sol artificiel*
- *Partie 2: Détermination des effets sur la reproduction*
- *Partie 3: Lignes directrices relatives à la détermination des effets sur site*

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7e288f6d-5d51-43a8-9703-8d8140948f7d/iso-11268-3-1999>

Introduction

La présente partie de l'ISO 11268 donne des lignes directrices relatives à l'évaluation des effets de certaines substances sur les espèces de vers de terre dans les conditions réelles sur le terrain. En raison du caractère complexe des essais sur le terrain, il sera souvent nécessaire d'apporter des modifications en fonction des conditions présentes sur des sites spécifiques.

Ces lignes directrices ont été établies en tenant compte des résultats et des recommandations d'un atelier international sur l'«Écotoxicologie des vers de terre», qui s'est tenu à Sheffield (Royaume-Uni) en avril 1991 (voir la bibliographie).

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

ISO 11268-3:1999

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7e288f6d-5d51-43a8-9703-8d8140948f7d/iso-11268-3-1999>

Qualité du sol — Effets des polluants vis-à-vis des vers de terre —

Partie 3:

Lignes directrices relatives à la détermination des effets sur site

1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 11268 décrit des techniques utilisées pour étudier les effets de substances sur les vers de terre sur le terrain et constitue une base pour la détermination des effets des produits chimiques appliqués ou incorporés au sol.

2 Références normatives

Les documents normatifs suivants contiennent des dispositions qui, par suite de la référence qui y est faite, constituent des dispositions valables pour la présente partie de l'ISO 11268. Pour les références datées, les amendements ultérieurs ou les révisions de ces publications ne s'appliquent pas. Toutefois, les parties prenantes aux accords fondés sur la présente partie de l'ISO 11268 sont invitées à rechercher la possibilité d'appliquer les éditions les plus récentes des documents normatifs indiqués ci-après. Pour les références non datées, la dernière édition du document normatif en référence s'applique. Les membres de l'ISO et de la CEI possèdent le registre des Normes internationales en vigueur.

ISO 10390:1994, *Qualité du sol — Détermination du pH.*

ISO 10694:1995, *Qualité du sol — Dosage du carbone organique et du carbone total après combustion sèche (analyse élémentaire).*

ISO 11274:1998, *Qualité du sol — Détermination de la caractéristique de la rétention en eau — Méthodes de laboratoire.*

ISO 11277:1998, *Qualité du sol — Détermination de la répartition granulométrique de la matière minérale des sols — Méthode par tamisage et sédimentation.*

3 Unités

Les taux d'application des substances d'essai sont exprimés en kilogrammes par hectare (kg/ha) ou en litres par hectare (l/ha) de substance appliquée. Lorsqu'il s'agit d'un matériau composé, le taux d'application est exprimé en fonction de la quantité de matière active appliquée.

4 Principe

Les espèces et le nombre de vers de terre recueillis par parcelle d'échantillonnage traitée avec la substance d'essai sont comparés à ceux recueillis dans les parcelles témoins et dans les parcelles traitées de référence. La durée de l'étude dépend des caractéristiques de la substance d'essai, mais elle est normalement fixée à 1 année. Les dates d'échantillonnage sont choisies pour coïncider avec les périodes d'activité des vers de terre.

L'échantillonnage donne le nombre relatif de vers de terre et il n'est pas nécessaire d'essayer de définir ce nombre en valeur absolue. Cet essai est réalisé avec un plan d'expérience complet randomisé à quatre réplicats. L'analyse statistique de la population de chaque espèce prélevée à chaque échantillonnage permet de déterminer les effets des traitements.

NOTE L'essai comporte également des échantillons de vers de terre prélevés dans des parcelles traitées pour une analyse des résidus, si celle-ci est appropriée.

5 Échantillonnage des populations de vers de terre

5.1 Généralités

Étant donné qu'il est nécessaire de prélever un grand nombre d'échantillons pendant une période de temps la plus courte possible, les méthodes d'extraction mécanique, telles que la sélection manuelle, l'extraction par lavage ou le tamisage, sont généralement trop contraignantes. Les méthodes d'extraction mécanique permettent cependant de prélever les échantillons lorsque les vers de terre ne sont pas actifs en raison des conditions météorologiques.

Pour les besoins de l'essai décrit dans la présente partie de l'ISO 11268, il est possible d'utiliser principalement la méthode d'extraction au formaldéhyde (Raw 1959) et celle de l'extraction électrique, ou méthode dite Oktett (Thielemann 1986, Cuendet *et al.* 1991). Ces méthodes d'extraction peuvent uniquement être employées lorsque les vers de terre sont actifs. Pour augmenter l'efficacité de ces méthodes, il est possible de les associer à la sélection manuelle (Lee 1985).

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

Les échantillons individuels sont prélevés par une répartition aléatoire sur toute la parcelle d'essai.

5.2 Méthode d'extraction au formaldéhyde ISO 11268-3:1999

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7e288f6d-5d51-43a8-9703->

Une solution de formaldéhyde (0,2 %) est appliquée uniformément à un taux de 5 litres/0,25 m² à 10 litres/0,25 m². Cette solution est répandue sur le site d'essai en 2 ou 3 fois en fonction de la capacité d'infiltration. La durée totale d'extraction est de 30 min.

Tous les vers de terre venant à la surface du sol dans la zone d'échantillonnage sont recueillis et placés dans un liquide de conservation (formol à 5 % ou alcool à 70 %) (voir 8.1). Après une période d'extraction de 30 min, la surface du sol et l'herbe sont soigneusement examinées afin de recueillir les vers de terre qui seraient passés inaperçus (en général, il s'agit de jeunes vers de terre de petite taille ainsi que ceux de l'espèce fusiforme *Aporrectodea rosea*).

5.3 Méthode d'extraction à la moutarde

Le jour précédant l'extraction, 60 g de poudre de moutarde sont mélangés à 1 litre d'eau distillée. Juste avant utilisation, cette émulsion de moutarde est ajoutée à 9 litres d'eau distillée et appliquée de la même manière que la solution de formaldéhyde. Le mode opératoire est similaire à l'extraction au formaldéhyde décrite en 5.2.

5.4 Méthode d'extraction électrique

En règle générale, des électrodes sont insérées dans le sol aux coins de la parcelle d'essai et les vers montent à la surface lorsque le courant est appliqué. Il existe plusieurs dispositifs d'extraction électrique, fonctionnant dans différentes conditions (courant continu ou alternatif, profondeur de pénétration de l'électrode, segmentation des électrodes, etc.). Il convient par conséquent de préciser l'équipement spécifique utilisé ainsi que les conditions de réalisation de l'essai. La durée totale de l'extraction est de 30 min. Après cette période d'extraction, il convient d'examiner minutieusement la surface du sol pour recueillir les vers de terre qui seraient passés inaperçus.

6 Préparation de l'essai

6.1 Site d'essai

6.1.1 Sélection et description

Il convient de réaliser l'essai sur un site semblable à celui où la substance d'essai serait normalement appliquée, ou à un endroit où un déversement ou un déchargement est susceptible de se produire. Il convient que ce site soit situé sur un terrain plat et qu'il présente les mêmes caractéristiques de végétation et de composition du sol sur toute sa surface.

Les prés et les vergers sont généralement mieux adaptés aux études de terrain avec des vers de terre que les terres arables, car ils comportent généralement des populations de vers plus importantes. Toutefois, lorsqu'il est nécessaire d'obtenir des informations relatives aux effets sur des sols nus, il est possible d'utiliser des parcelles arables à condition qu'elles comportent au minimum 20 vers de terre par mètre carré, et qu'elles présentent de toute évidence une diversité d'espèces assez importante.

Pour qu'une surface d'essai dans un pré soit acceptable, il convient qu'elle ait une densité en vers de terre d'au moins 100 individus par mètre carré. Si la densité de population est inférieure, il convient de prélever un plus grand nombre d'échantillons que celui recommandé en 6.1.3.

Il convient que les parcelles expérimentales comportent une population mixte d'organismes (Bouché 1977), généralement représentatifs du type d'environnement choisi. Dans les régions agricoles, par exemple, il convient que les principales espèces, telles que *Lumbricus terrestris* et *Aporrectodea caliginosa* soient présentes à une densité suffisamment élevée (10 % de la population au moins) pour que les parcelles soient considérées comme représentatives. Il convient de veiller à ne pas sélectionner de parcelles qui présentent essentiellement des espèces non représentatives.

Afin de satisfaire à ces exigences, il convient de prélever des échantillons à partir de parcelles prospectives avant le début de l'étude préliminaire sur la répartition des espèces.

Il convient d'éviter de sélectionner comme site d'essai des types de sols extrêmes, tels que les sols très sablonneux, les terres argileuses et les landes.

Il convient que la description du site d'essai comprenne les données physico-chimiques et biologiques suivantes:

- le profil du sol;
- la répartition granulométrique des particules, conformément à l'ISO 11277;
- la teneur en carbone organique, conformément à l'ISO 10694;
- le pH, conformément à l'ISO 10390;
- la capacité de rétention au champ (dans l'horizon A);
- une description de la végétation.

Il convient de réaliser la détermination de ces caractéristiques à l'aide de méthodes types.

Les mesurages microclimatiques (température du sol et de l'air, humidité du sol, quantité de précipitation, durée d'ensoleillement) sont particulièrement importants pour la période d'application des produits chimiques, et il convient que la température et la quantité de précipitation soient enregistrées sur l'ensemble de l'année.

Il convient de connaître l'histoire du site d'essai (par exemple applications de pesticides, de fertilisants minéraux, de boues d'assainissement, etc.).

NOTE Lorsqu'un produit chimique spécifique est soumis à l'essai, il convient que le site n'ait pas été exposé à un produit chimique similaire au cours des trois dernières années.

6.1.2 Entretien des terrains d'essai

Il convient de pailler régulièrement les prés (de deux à six fois par an) afin que la couverture herbeuse reste courte. Il convient que le paillage soit effectué une semaine ou deux avant l'application afin de s'assurer que l'herbe à la surface, qui servira de nourriture à certains vers de terre, a bien été en contact avec le matériau d'essai. Le dernier paillage avant l'application de la substance peut être laissé sur le terrain uniquement s'il ne constitue pas un tapis herbeux compact. Dans le cas d'un paillage au cours de l'année, il convient de laisser la paille sur le terrain car elle sert de nourriture à certaines espèces de vers de terre.

Si un essai est réalisé sur une terre arable, il convient d'utiliser la pratique agricole usuelle. Toutefois, il convient, dans la mesure du possible, de ne pas traiter le sol au cours de l'essai.

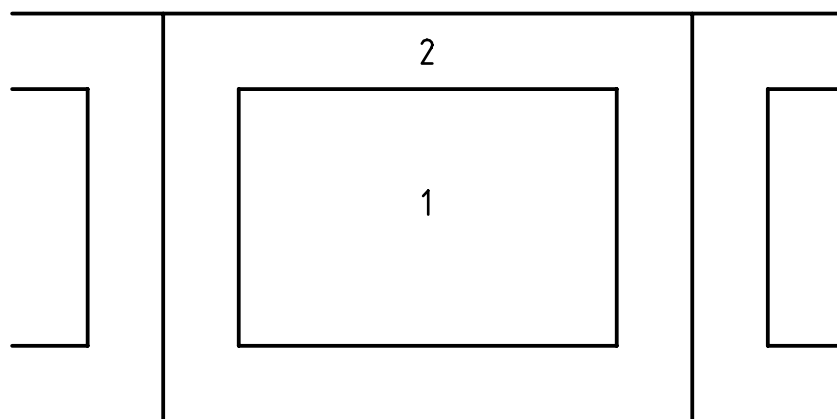
Il convient de ne pas utiliser de pesticides sur la surface d'essai. Toutefois, si une application est inévitable, il convient que le produit chimique choisi ne soit pas toxique vis-à-vis des vers de terre. Il convient que la même substance soit également appliquée aux parcelles témoins. En ce qui concerne l'interprétation des résultats d'essai, il doit être gardé à l'esprit que même si ce produit chimique n'affecte pas les vers de terre, des interactions entre les résidus du produit chimique non toxique et la substance d'essai peuvent se produire.

Dans certains cas individuels, il est possible qu'une irrigation par aspersion artificielle du terrain d'essai soit utile, car les vers de terre ne deviennent actifs et ne montent à la surface que lorsque l'humidité du sol est suffisante. L'irrigation après application de la substance d'essai peut accroître l'exposition directe des vers de terre aux produits chimiques d'essai. L'irrigation appliquée dépend des conditions locales et il est donc impossible de formuler des recommandations strictes. L'irrigation, une ou deux semaine(s) avant l'échantillonnage, peut faciliter l'échantillonnage, voire lui être indispensable, car il est tributaire de l'activité animale.

6.1.3 Conception expérimentale

Il convient que l'essai soit conçu comme un essai sur parcelles randomisées. Le nombre de dates d'échantillonnage prévues détermine la surface de la parcelle d'essai.

Toutefois, les parcelles (c'est-à-dire les réplicats) doivent avoir une aire d'au moins 100 m² (10 m × 10 m). Les échantillons sont prélevés exclusivement dans la zone centrale des parcelles de manière à réserver une bordure également traitée d'une largeur de 1 m à 2 m autour de la surface d'échantillonnage (voir Figure 1).



Légende

- 1 Surface d'échantillonnage
- 2 Bordure

Figure 1 — Vue schématique d'une parcelle d'essai

Il convient que les échantillons prélevés à la même date soient espacés d'au moins 2 m et que les surfaces utilisées pour l'échantillonnage ne soient pas réutilisées pour un échantillonnage à une date ultérieure.

Le nombre requis d'échantillons aléatoires dépend, entre autres, de la densité et de la répartition de la population de vers de terre sur la surface d'essai (Daniel & Bieri 1988).

Pour chaque variable d'essai (témoin, substance de référence, substance d'essai), il convient d'utiliser au moins quatre réplicats et de prélever au hasard quatre échantillons par réplicat (c'est-à-dire 16 échantillons individuels par variable d'essai).

Pour les prés, une surface d'échantillonnage de 0,25 m² par échantillon individuel est suffisante. Il est recommandé d'utiliser une enceinte en métal ou en plastique d'un diamètre de 56 cm et d'une hauteur de 10 cm à 15 cm afin d'assurer une protection contre le vent. Pour une terre arable, la surface d'échantillonnage doit normalement être étendue à 1 m² en raison de la faible densité de population ou de la répartition non homogène de la population animale.

Pour les prés, il convient que la végétation sur la zone d'échantillonnage soit soigneusement coupée avant l'échantillonnage afin de pouvoir voir et recueillir tous les vers de terre apparaissant à la surface.

Il convient de veiller à ce que les orifices de passage des vers de terre ne soient pas obstrués et, par conséquent, que le personnel procédant à l'essai évite de marcher sur les surfaces d'échantillonnage.

6.2 Contrôle de l'efficacité de la méthode d'extraction

Il convient que l'efficacité de la méthode d'extraction sélectionnée soit contrôlée au début de la période d'échantillonnage. À cet effet, la terre située au-dessous de la surface échantillonnée est creusée, après échantillonnage, à une profondeur de 30 cm à 50 cm (en fonction de la répartition des vers dans les différents horizons du sol) et est répartie sur une feuille plastique ou dans des boîtes. La terre est ensuite soigneusement cassée à la main pour rechercher les vers. Il convient de noter les phases de diapause ou de passivité. Il convient que la méthode d'extraction choisie isole au minimum 60 % des vers de terre recueillis comme décrit ci-avant. Il convient de creuser des trous dans au moins trois sites d'échantillonnage avant de poursuivre l'échantillonnage.

Lorsque l'échantillonnage est effectué sur une période de plusieurs jours, il convient de réaliser, à des intervalles dictés par les circonstances, des contrôles d'efficacité sur des échantillons prélevés au hasard, afin de tenir compte des changements météorologiques ou du dessèchement du sol.

7 Mode opératoire

7.1 Application de la substance d'essai

Il convient d'identifier complètement la substance d'essai et la substance de référence dans le rapport d'essai, et d'inclure les indications relatives aux propriétés physiques et chimiques lorsque cela facilite l'interprétation des résultats des essais.

Lorsque les produits chimiques sont conçus pour une application au sol (par exemple des produits chimiques agricoles), les taux d'application, les formulations et le mode d'application sont spécifiés par les fournisseurs et il convient de les respecter. Idéalement, dans de tels cas, il convient que l'application au cours de l'essai utilise un équipement d'application similaire à celui utilisé dans la pratique (par exemple, pour les essais avec des pesticides, il convient d'effectuer l'application au moyen du pulvérisateur agricole approprié, conçu pour fournir des volumes équivalents de la même manière). Il convient que tout équipement soit réglé avant utilisation afin d'assurer la pulvérisation à un taux égal au taux maximal qui serait normalement utilisé dans la pratique agricole.

NOTE Dans le cas d'une application de pesticides avec de l'eau, il convient que le taux d'application d'eau soit de 200 l/ha à 300 l/ha sur les terres arables. Lorsqu'il s'agit de prés, il convient d'utiliser un taux de 400 l/ha à 800 l/ha afin de garantir la pénétration. Si plusieurs applications sont prévues, il convient de les réaliser à des intervalles correspondant aux modes opératoires utilisés normalement pour l'application.

Dans le cas d'une étude sur les effets d'un déversement accidentel de produits chimiques ou d'un lessivage accidentel avec ces produits, il convient que l'application vise à se rapprocher le plus possible des conditions réelles, tout en respectant les contraintes d'échantillonnage (par exemple répartition uniforme sur les parcelles).